

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



Técnicas utilizadas no diagnóstico microbiológico das infeções urinárias no laboratório de microbiologia.

Lúcia Sónia Valentim

Orientador: Professor Doutor José Melo Cristino

Coorientador: João Pedro Madail

Dissertação especialmente elaborada para obtenção do grau de Mestre em Microbiologia Clínica e Doenças Infeciosas Emergentes.

Lisboa 2019

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



Técnicas utilizadas no diagnóstico microbiológico das infeções urinárias no laboratório de microbiologia.

Lúcia Sónia Valentim

Orientador: Professor Doutor José Melo Cristino

Coorientador: Dr. João Pedro Madail

Dissertação especialmente elaborada para obtenção do grau de Mestre em Microbiologia Clínica e Doenças Infeciosas Emergentes.

Lisboa 2019

A impressão desta dissertação foi aprovada pelo Conselho Científico da Faculdade de Medicina de Lisboa em reunião de 19 de novembro de 2019.

Dedicatória e agradecimento

A realização do estágio, foi uma das etapas mais importante da minha vida, por isso, dedico este trabalho a Deus pai todo poderoso por ser o meu guia durante a minha formação;

Ao meus queridos Orientadores de estágio, Dr. João Pedro Madail e professor doutor José Melo Cristino, que ao longo destes meses tem sido excelentes instrutores; pela paciência, dedicação para comigo e por transmitir sempre o seu bom humor;

Um agradecimento especial à técnica Dulce Pequeno por se ter disponibilizado sempre para explicar-me tudo até ao mais ínfimo pormenor. Mais que uma professora, tornou-se uma amiga para manter;

Aos meus pais e meus irmãos, pois sem eles nada disso seria possível; obrigada por confiarem em mim;

A toda equipa do mestrado que tem dirigido com zelo e muita dedicação, em especial os professores, Emília Valadas e Thomas Hanscheid que tem feito o papel dos meus pais, corrigindo-me e ensinando-me coisas incríveis que não havia aprendido em lugar algum;

Aos meus colegas, Carolina Barreto e Beatriz Esteves por me auxiliarem no momento em que mais precisei;

Ao meu noivo, pela compreensão e apoio incondicional;

A minha querida Lucrécia que tem sido a minha motivação e razão das minhas lutas;

Os meus amigos, Cárine Luzia Camato, Arsénio Manuel, António Cawaha, Manuel Augusto, Álvaro Alexandre e Domingos Ilombo pelo apoio psicológico e financeiro durante a minha formação.

A TODOS O MEU MUITO OBRIGADA

RESUMO

O presente relatório de estágio, aborda acerca das técnicas de diagnóstico microbiológico das infeções do trato urinário utilizadas no Laboratório de Microbiologia do Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte, onde após uma breve caracterização do local do estágio, são abordados alguns aspetos ligados ao trato urinário, assim como sua anatomia, fisiologia e suas características patológicas,

No relatório foram descritos todos os métodos e equipamentos utilizados no setor de microbiologia, particularmente na área de diagnóstico das infeções do trato urinário.

O estágio foi realizado no período de 6 meses, onde inicialmente foram realizados alguns enquadramentos teóricos acerca do funcionamento, estrutura do laboratório e acerca das infeções do trato urinário, assim como de todos os procedimentos analíticos a realizar.

Na fase pré-analítica foram descritas as técnicas de colheita da urina, os frascos adequados e os cuidados a ter com a amostra, assim como também foram adquiridos conhecimentos acerca do processo de triagem, rejeição e conservação da amostra.

Na fase analítica foram descritas as técnicas utilizadas para o diagnóstico das ITUs, começando pelo rastreio que é realizado por intermédio de um equipamento automatizado de citometria de fluxo "Sysmex UF 1000i", a urocultura que é feita em meio de gelose sangue e macConkey, nesta fase também é realizada a coloração de Gram que serve para diferenciar as bactérias Gram negativo das Gram positivo. São realizadas também algumas provas rápidas de identificação, como a prova da catalase, oxidase e a prova de filamentação. Abordou-se também ainda na fase analítica os equipamentos automatizados utilizados para a identificação dos microrganismos responsáveis pelas infeções do trato urinário e os seus respetivos antibiogramas.

Na fase pós-analítica foi realizado o segmento da emissão dos resultados e validação dos mesmos.

Palavras chave: Diagnóstico, Microbiológico, Infecções urinárias, Laboratório de microbiologia

ABSTRACT

This internship report discusses the techniques of microbiological diagnosis of urinary tract infections used in the Microbiology Laboratory of the Centro Hospitalar Universitario Lisboa Norte, where after a brief characterization of the internship site, are addressed some aspects related to the urinary tract, as well as its anatomy, physiology and pathological characteristics. The report will describe all the methods and equipment used in the microbiology sector, particularly in the area of diagnosis of urinary tract infections. The internship was performed in the period of 6 months, where initially some theoretical frameworks were performed about the functioning, structure of the laboratory and about urinary tract infections, as well as all the analytical procedures to be carried out. In the pre-analytical phase, we described the techniques used for the diagnosis of ITUs, beginning with the screening that is performed through an automated flow cytometry equipment " Sysmex UF 1000i ", the uroculture that is made in the medium of blood agar and MacConkey agar , at this stage is also performed the Gram staining that serves to differentiate Gram-negative bacteria from Gram-positive. Some rapid identification tests, such as catalase, oxidase and filamentation test, are also carried out. The automated equipment used for the identification of microorganisms responsible for urinary tract infections and their respective antibiograms was also approached in the analytical phase. In the post-analytical phase the results emission and validation were performed.

Keywords: diagnosis, microbiologic, urinary tract infections, microbiology laboratory.

Índice Geral

RESUMO	5
ABSTRACT	7
Índice de figura.....	10
Lista de abreviaturas.....	11
Introdução	1
CAPÍTULO 1 - CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO.....	3
1.1. Organização funcional	4
1.1.1. Bacteriologia Geral:.....	4
CAPÍTULO 2 - REVISÃO DA LITERATURA	6
2.1. Anatomia do aparelho urinário	6
2.2 Fisiologia renal	7
2.2.1 Filtração glomerular	8
2.2.2 Reabsorção e secreção tubular.....	8
2.3 Infecções Urinárias	9
2.3.1 Características Clínicas	9
2.4 Epidemiologia	10
2.5 Etiologia	11
2.6 Manifestações clínicas	12
2.7 Fatores de risco.....	13
2.7.1 Obstrução do trato urinário.....	13
2.6.2 Risco na cateterização	14
2.6.3 Gravidez.....	14
2.6.4 Transplante renal	14
2.6.5 Bexiga neurogénica	14
2.6.6 Crianças não circuncisadas.....	15
2.7 Diagnóstico.....	15
2.8 Tratamento.....	20
CAPÍTULO 3 - ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	23
3.1 Fase pré-analítica.....	24
3.1.1 Preparação do doente para a colheita da amostra	25
3.1.2 Técnicas para a colheita da amostra	25
3.1.3 Frascos adequados para a colheita da amostra.....	27
3.2. Fase Analítica.....	29

3.2.1 Rastreio-----	30
3.2.2 Exame cultural e direto -----	31
3.2.5 Identificação e Antibiógrama-----	34
3.2.6 Controlo de qualidade-----	40
3.4. Fase pós-analítica-----	43
4. Conclusão -----	44
Referências bibliográficas-----	45

Índice de figura

Figura 1- estrutura do sistema urinário	7
Figura 2- Frasco apropriado para colheita da urina (Fonte: LMB CHLN).....	28
Figura 3- Frasco de conservação da urina, contendo ácido bórico (Fonte: LMB CHN)	29
Figura 4- equipamento SYSMEX®-UF1000 (Fonte: LMB CHLN)	30
Figura 5- cultura em gelose sangue (Fonte: LMB CHN).....	31
Figura 6- cultura em meio macConkey (Fonte: LMB CHLN).....	Erro! Marcador não definido.
Figura 7- suporte giratório para as laminas. (Fonte: LMB CHLN).	33
Figura 8- aparelho Aerospray ® Gram (LMB CHLN).....	33
Figura 9- Equipamento de identificação microbiológica, Malti-ToF. (Fonte: LMB CHN) ...	36
Figura 10- Placas do equipamento, Maldi-ToF. (Fonte:LMB CHN).....	36
Figura 11- equipamento Vitek 2® (BioMérieux®). Fonte: LMB CHLN.....	38
Figura 12- Aparelho MicroScan WakAway 96 SI®. (Fonte: LMB CHLN)	38
Figura 13- Placas contendo o agar Mueller-Hinton e os discos de antibióticos.....	40
Figura 14- placa com tiras de E-teste	40

Lista de abreviaturas

BA- Bacteriúria Assintomática

CHULN- Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte

CIM- Concentração Inibitória Mínima

CNA- Colistina Ácido Nalidíxico

EL- Esterase Leucocitária

EMB- Eosina Azul de Metileno

GN- Gram-negativa

GP- Gram-positiva

HSP- Hospital Santa Maria

HPV- Hospital Pulido Valente

LB- Laboratório

LM- Laboratório de Microbiologia

RB- Reinolds Braud

SPC- Serviço de Patologia Clínica

ITUs- Infecções do Trato Urinário

TU- Trato Urinário

TSA- Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos

UCF- Unidade Formadora de Colónia

BPC- Bactéria Produtora de Carbapenemase

UKNEQAS- United Kingdom National External Quality Assessment Scheme

CQI- Controlo de Qualidade Interna

CQE- Controlo de qualidade Exteno

Introdução

O diagnóstico microbiológico das infeções urinárias é um dos exames que se realizam com muita frequência nos laboratórios de microbiologia, elas englobam as infeções adquiridas em ambientes hospitalares como nas comunidades. O termo infeções urinárias engloba uma série de entidades diferentes, por isso é que para o seu diagnóstico, devem ser levados em conta não apenas o tipo de microrganismo, mas também o método de colheita da urina utilizada e os elementos contidos nela.

O presente relatório refere-se ao estágio realizado no Serviço de Patologia Clínica no Laboratório de Microbiologia do Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte (CHULN), num período compreendido entre os meses de janeiro a julho de 2019, no âmbito do curso de mestrado em Microbiologia Clínica e Doenças Infeciosas Emergentes ministrado pela Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Justificativa do tema

Em África as infeções urinárias continuam a ser um grave problema de saúde da população. Isto acontece principalmente por falta de técnicos qualificados para a realização de um diagnóstico fiável, pela falta de equipamentos de ponta e também pela negligência de alguns populares em deslocar-se em unidades hospitalares em casos de suspeita.

Em Angola, por exemplo, o diagnóstico das ITUs é muito precário, baseando-se apenas em técnicas simples como a análise físico-química que é realizada com ajuda da fita reagente e o estudo do exame da urina centrifugada, não realizando a coloração de Gram, que é uma técnica simples de se fazer e barata nem a identificação das bactérias e muito menos o teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA).

Com este diagnóstico precário a população vem sendo medicada inadequadamente, causando ainda mais um problema grave, que é a resistência dos microrganismos contra os antimicrobianos utilizados no tratamento das infeções do trato urinário. Durante o estágio curricular que decorreu no Laboratório de Microbiologia do Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte, observaram-se algumas técnicas de diagnóstico muito eficazes como o rastreio

das urinas no equipamento da Sysmex UF-1000i(citómetro de fluxo), cultura e identificação da bactéria em questão, que normalmente é feita com ajuda do equipamento MALDI-TOF e outros bem como o TSA, que são técnicas que nunca tinha visto em outros laboratórios em que passei em Angola; razão pela qual escolheu-se este tema, para aperfeiçoar os conhecimentos acerca das infeções do trato urinário e também para aperfeiçoar algumas técnicas de diagnóstico que, num futuro próximo, possa ser implementada nos laboratórios das unidades hospitalares do país, melhorando assim os serviços prestados na área da saúde, no que concerne ao processo de análises clínicas realizadas.

OBJETIVO DO ESTÁGIO

- Acompanhar as técnicas utilizadas no diagnóstico das infeções do trato urinário, desde o processo pré-analítico, analítico e pós-analítico.

CAPÍTULO 1 - CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

O Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte integra dois importantes estabelecimentos de referência do Serviço Nacional de Saúde Português, o Hospital de Santa Maria (HSM) e o Hospital Pulido Valente (HPV). O HSM foi inaugurado no ano de 1953, foi aberto ao público e iniciado a sua atividade no ano de 1954.

Na execução das suas atividades, consagrou-se como uma unidade de assistência central de referência e desempenha importantes funções de prestação de cuidados de saúde, de formação pré, pós-graduada e continuada desempenhando um papel importante a nível da inovação e investigação nas áreas de ciências da saúde.

O Laboratório de Microbiologia localiza-se no piso quatro e está inserido no Serviço de Patologia Clínica (SPC) cujo diretor é o Professor Doutor José Melo Cristino. Este Serviço desempenha atividades assistenciais que permitem a realização de exames laboratoriais necessários na prevenção, diagnóstico e monitorização terapêutica dos doentes do CHULN e de outras entidades hospitalares. O Serviço de Patologia Clínica, encontra-se dividido pelos seguintes laboratórios: Química Clínica, Hematologia, Microbiologia, Biologia Molecular Imuno-Serologia e Autoimunidade e o Laboratório de Urgência.

No SPC, existem alguns grupos de trabalho formados por colaboradores dos diferentes laboratórios, englobando não só médicos, mas também técnicos e assistentes técnicos, que ajudam e contribuem para um melhor funcionamento do SPC, que incluem: uma equipa de qualidade, grupo dinamizador da formação, grupo dinamizador de atividades científicas, grupo dinamizador de segurança, grupo dinamizador de informática, grupo dinamizador de racionalização dos pedidos, grupo de articulação do HPV-HSM.

O Serviço de Patologia Clínica utiliza um sistema informático denominado Clinidata XXI® que permite a integração automática de resultados provenientes dos analisadores, validação automática dos resultados, inscrição de exames, inclusão de conclusões e mensagem clínica nos resultados enviados, bloqueio de requisições de análises desnecessárias, apoio na decisão clínica e geração

automática de alarmes. O Clinidata XXI® também permite a obtenção de indicadores estatísticos e tratamentos de dados.

O SPC assegura o funcionamento do seu sistema de gestão de qualidade, garantindo o cumprimento dos seus requisitos e o cumprimento dos requisitos legais aplicáveis, numa perspetiva de melhorar continuamente a eficácia do seu sistema. O Serviço de Patologia Clínica, encontra-se certificado pela norma NP EN 9001:2015 desde julho de 2018, pela empresa Société Générale de Surveillance S.A.

O Laboratório de Microbiologia é coordenado pelo Dr. Luís Marques Lito.

É um laboratório que se encontra organizado em secções de apoio laboratorial: culturas primárias, áreas de lavagem e esterilização do material, preparação de meios de cultura e outras áreas de armazenamento. As áreas laboratoriais integram diversas salas de receção, processamento e avaliação dos diversos produtos microbiológicos:

- ✓ Sala de avaliação de urinas e exsudados urogenitais;
- ✓ Sala das avaliações das hemoculturas, dos cateteres vasculares e provas de esterilidades, das amostras do aparelho respiratório superior, das coproculturas e colonizações;
- ✓ Sala de microscopia de fluorescência;
- ✓ Sala com pressão negativa: amostras de doentes com suspeita de infeção por micobactérias;
- ✓ Sala de teste de suscetibilidade aos antimicrobianos e identificação de microrganismos.

No Laboratório de Microbiologia colaboram 9 médicos especialistas em Patologia Clínica, 2 técnicos superiores de saúde, 23 técnicos superiores de análises clínicas e saúde pública.

1.1. Organização funcional

1.1.1. Bacteriologia Geral:

1. Infeções génito-urinárias Infeções sexualmente transmissíveis
2. Infeções da corrente sanguínea
3. Infeções gastrointestinais Infeções dos tecidos moles, líquidos biológicos e de órgão Infeções do aparelho respiratório superior e inferiores

Identificação microbiana antibiograma e estudo das infecções meníngeas

Micobacteriologia

4. Micologia
5. Parasitologia
6. Bacteriologia das bactérias anaeróbias

CAPÍTULO 2 - REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo abordam-se alguns aspetos importantes acerca do trato urinário, onde se focou na sua anatomia, fisiologia e fisiopatologia, falou-se também de alguns aspetos do diagnóstico e tratamento das ITUs.

2.1. Anatomia do aparelho urinário

O aparelho urinário é constituído por dois rins, dois uréteres, uma bexiga e uma uretra. Os rins estão localizados junto à parede posterior do abdómen, de cada lado da coluna vertebral, eles possuem duas margens, uma côncava ou interna e outra convexa, ou externa; na parte interna do rim, localiza-se o hilo onde os nervos, vasos linfáticos e sanguíneos entram e saem, e também é por onde sai os uréteres que conectam os rins e a bexiga. Os rins são divididos por três regiões que são: córtex, pelves e medula; cada rim contém aproximadamente 1.200.000 nefrónios. Os nefrónios são as unidades funcionais dos rins ^(1,2,3).

Cada nefrónio apresenta duas partes principais que são: cápsula glomerular e os túbulos renais que são constituídos pelo túbulo contornado proximal, ansa de Henle e pelo túbulo contornado distal. Existem dois tipos de nefrónios, um cortical e outro justa medular ^(1,2,3). O glomérulo forma-se quando a arteríola aferente divide-se em uma rede de ansa de Henle constituída por 4 a 8 ansas capilares, cujo diâmetro é de 20µ de diâmetro. O capilar glomerular penetra o epitélio da cápsula de Bowman de modo que ele tenha apenas uma camada de células epiteliais ao seu redor; o glomérulo é constituído por capilares e uma membrana basal recoberta de células epiteliais denominadas podócitos que estão separados da cápsula restante, por um espaço denominado espaço de Bowman. A cápsula de Bowman é constituída por uma camada de células escamosas sustentadas por uma lâmina basal e uma camada fina de fibras reticulares. ^(1,2,3)

O túbulo contornado proximal, mede acerca de 14 mm de comprimento e 60 µm de diâmetro. As suas paredes são compostas por epitélio cúbico simples, cujas células ajustam-se sobre a membrana basal, que forma a superfície externa do túbulo. No interior das células do túbulo proximal encontra-se a bomba de sódio,

potássio e grande quantidade de mitocôndrias. As ansas de Henle são prolongamentos dos túbulos proximais e existem três tipos de ansa de Henle, a cortical, a curta e a longa. ⁽¹⁾

Os túbulos contornados distais são constituídos por células não planas que não apresentam microvilosidade, mas são observadas interdigitações celulares e menos mitocôndrias em relação às células dos túbulos contornados proximais. ^(1,4)

O túbulo contornado proximal, a ansa de Helen e o tubo contornado distal são envolvidas por uma rede, capilares peri tubulares, por onde circulam os solutos reabsorvidos e secretados pelos nefrônios. ⁽¹⁾

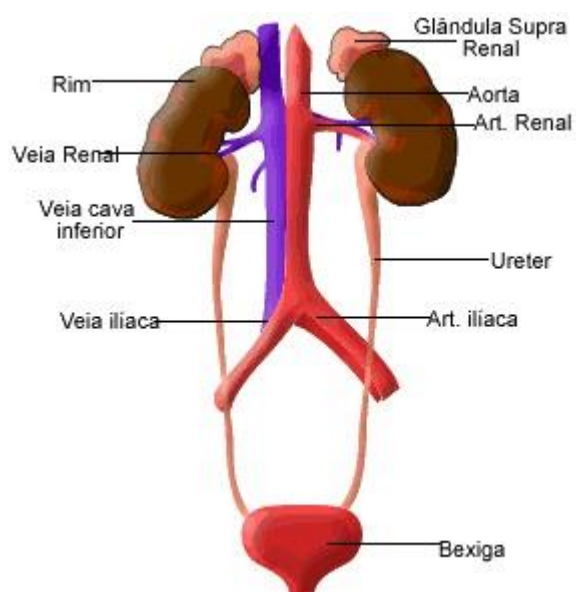


Figura 1- estrutura do sistema urinário

Fonte: <https://www.anatomiadocorpo.com/sistema-urinario/sistema-renal/>

2.2 Fisiologia renal

Através do processo de filtração, reabsorção e secreção, os rins desempenham as seguintes funções ^(3,4):

- Remoção de produtos finais do metabolismo;
- Retenção de proteínas, água e glucose;
- Manutenção do equilíbrio acidobásico, do equilíbrio hídrico e eletrolítico;
- Excreção de substância exógenas;
- Formação da urina.

2.2.1 Filtração glomerular

Através da membrana glomerular, o sangue chega aos rins pela arteríola renal, que se ramifica em arteríolas menores, até que pela arteríola eferente entra nos glomérulos e é filtrado. A filtração glomerular é feita através de uma pressão efetiva de filtração, que na parte inicial, mas próximo da arteríola eferente é de aproximadamente 15 mm de Hg e vai diminuindo aproximando-se do zero ao longo da rede capilar em consequência do aumento da pressão oncótica. A membrana semipermeável do glomérulo permite a passagem de todas as substâncias com a massa molecular inferior a 70.000 Dalton, de modo que o filtrado tem necessariamente a mesma constituição do plasma, exceto os lípidos plasmáticos e as proteínas. O filtrado formado tem osmolaridade próxima da verificada no plasma, de 232 a 300 Osm/L, e a densidade de aproximadamente 1.008, é o resultado da primeira etapa da formação de urina. A urina passa pelo tubo coletor, desce para os ureteres e bexiga; posteriormente, a urina é enviada para o exterior e ocorre a sua excreção. Diariamente, são formados 180 litros desse filtrado num indivíduo adulto normal, mas, aproximadamente 99% desse volume é reabsorvido através dos túbulos renais para o sangue, restando apenas de 1,5 a 2 litros de urina por dia para serem eliminados. ^(1,5,6)

2.2.2 Reabsorção e secreção tubular

O processo de reabsorção tubular ocorre por transporte ativo e transporte passivo. No transporte ativo as substâncias são transportadas através das membranas celulares contra o gradiente de concentração, necessitando assim de gastos de energia direto para realização deste transporte; já o transporte passivo, ocorre por gradiente osmótico e não requer gastos diretos de energia. ^(1,6)

Nos túbulos contornados proximais, em condições normais são reabsorvidos 80% da água existente no filtrado. ⁽⁶⁾

2.3 Infecções Urinárias

2.3.1 Características Clínicas

As infecções do trato urinário (UTIs), representam um grande problema de saúde para o doente e custos elevados para a sociedade. Elas apresentam-se como uma das principais infecções que afetam o ser humano ^(7,8). É considerada uma infecção urinária quando existe presença de bactérias ou de outro microrganismo em qualquer parte que compõe o aparelho urinário, com exceção da uretra distal que pode ser colonizada pela flora microbiana comensal ^(7,8). Consoante o local anatómico a atingir, as infecções recebem nomes diferentes, sendo assim existem infecções baixas que ocorrem quando há colonização de microrganismo na bexiga (cistite), na uretra (uretrite) e na próstata (prostatite), a infecção nos rins, designam-se por pielonefrites e são infecções altas ^(7,8).

Na cistite a inflamação/infecção instala-se no uroepitélio da bexiga sem envolvimento, do parênquima renal. Nas infecções urinárias altas, a inflamação/infecção estende-se aos ureteres, pélvis renal e ao parênquima renal, podendo causar lesões permanentes, causando em alguns casos, insuficiência renal crônica ^(7,8).

As UTIs podem ser classificadas como infecções complicadas ou não complicadas. As infecções complicadas são aquelas que ocorrem num trato urinário com anomalias estruturais e funcionais, em indivíduos imunocomprometidos e as que são causadas por microrganismos de grande virulência; e as não complicadas são aquelas que ocorrem num trato urinário (TU) anatómico e funcionalmente normal de um indivíduo saudável. Elas podem ainda ser classificadas quanto a relação com outras infecções urinárias em infecções primárias quando estamos perante um primeiro episódio de ITU, e infecções recorrentes quando há existência de dois ou mais episódios de ITU sintomática no período de 6 meses ^(8,9). A Associação Europeia de Urologia, sub-classifica da seguinte forma a UTI recorrente:

- A) Infecção não resolvida;
- B) Persistência bacteriana;

C) Reinfecção.

A infecção não resolvida tem como principais causas, o uso de doses sub-terapêuticas de agentes antimicrobianos, fraca adesão a terapêutica e a presença de microrganismos resistentes a antibioterapia ministrada; a reinfecção deve-se a obtenção de microrganismos da flora periuretral ou retal, que condicionam uma nova infecção⁽⁹⁾.

O microrganismo pode atingir o trato urinário pela via ascendente, através da uretra, ou pela via descendente quando os microrganismos são provenientes de outros locais instalando-se a nível dos rins^(8,9). A infecção ascendente (pela uretra, e maioritariamente pelas bactérias da flora fecal que colonizam a zona urogenital) é a via mais comum pela qual as bactérias têm acesso ao trato urinário; a partir das zonas colonizadas da região periuretral e do vestíbulo da vulva, as bactérias ascendem em pequenas quantidades até à bexiga, onde em circunstâncias normais são eliminadas pelo próprio organismo, através do fluxo de propriedades antibacterianas presentes na urina e em menor escala, pela presença de leucócitos presentes na superfície vesical.⁽⁹⁾ Se as bactérias não forem eliminadas, e tendo em conta a dinâmica entre o tamanho do inóculo, os fatores de virulência, o mecanismo de defesa do hospedeiro e a presença ou não de alterações estruturais, ou funcionais do trato urinário, estabelece-se a adesão e multiplicação com o desenvolvimento de infecção^(8,9).

2.4 Epidemiologia

As infeções do trato urinário constituem a terceira principal infeção mais comum nos humanos, ficando atrás das infeções respiratórias e gastrointestinais, sendo causadas principalmente por bactérias⁽⁹⁾.

A prevalência das infeções do trato urinário é maior em mulheres de todas as idades, exceto no primeiro ano de vida, onde a infeção é mais frequente em crianças do género masculino devido à colonização do prepúcio⁽⁹⁾. Elas ocorrem em 1 a 3% das meninas em idade escolar e vão aumentando gradualmente devido o início da atividade sexual na adolescência. O auge de incidência das infeções urinárias baixas não complicadas em mulheres, observam-se entre os 18 aos 35 anos de idade, coincidindo com a idade onde a mulher leva uma vida

sexual ativa e também devido à gravidez. Estima-se que 15% das mulheres, aos 70 anos apresentam bacteriúria assintomática, número que aumenta para os 30 a 40% em idosas internadas em instituições geriátricas ^(9,10).

O local mais comum de infecção do trato urinário na mulher é a bexiga, isto porque a mulher apresenta a uretra mais curta em relação aos indivíduos do gênero masculino ⁽⁹⁾.

A Em relação à ITU nos homens, pode observar-se que está, em geral relacionada com problemas ao nível da próstata, de cateterismo e com a diabetes mellitus ^(9,11). A prostatite bacteriana crônica é uma doença comum em homens, é responsável por infecções recidivantes do trato urinário, ela é geralmente causada por bacilos Gram-negativo como, por exemplo a *Escherichia coli* que é responsável pela maioria das infecções, e os restantes casos são causados pela *Klebsiella sp*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas sp*, e *Enterobacter sp*. Entre as bactérias Gram-positivo o *enterococo* é o mais frequente causador da prostatite ^(9,11,12).

2.5 Etiologia

A etiologia das ITU é na maioria das vezes, de origem bacteriana e essas infecções são geralmente adquiridas por via ascendente, da uretra para a bexiga ^(9,10). Ocasionalmente as bactérias que infectam o trato urinário podem atingir a corrente sanguínea e causar septicemia⁽⁹⁾. Os agentes etiológicos envolvidos nas infecções urinárias na comunidade são descritos por ordem de frequência: *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus spp*, *Klebsiella spp* e o *Enterococcus faecalis* ^(9,13,14). A *Escherichia coli*, é responsável por 70 a 85% dos casos de infecções urinárias adquiridas na comunidade e por 50 a 69% dos casos adquiridos no meio hospitalar ^(9,12,15). Quando a infecção é adquirida no ambiente hospitalar, os agentes etiológicos são bastantes diversificados, com a predominância das enterobactérias e com redução da frequência da *E. coli*; *Proteus sp*; *Pseudomonas Aeruginosas*; *Klebsiella spp*; *Enterobacter sp*; *Enterococcus faecalis* e de fungos ^(9,14,16,17). As ITUs em doentes hospitalizados e nos doentes que tem uma exposição constantes aos antibióticos são por vezes causadas por estirpes Gram-negativo multirresistentes, como as bactérias

produtoras de betalactamase de largo espectro(ESBL) e as produtoras de carbapenemase (BPC)^(29,30,31).

Num estudo realizado em Portugal no ano de 2006, onde foram utilizados dados de um laboratório em Lisboa, determinou a prevalência dos microrganismos presentes nas amostras de urina asséptica em doentes com infeção urinária em ambulatório, onde foram realizadas 2820 uroculturas, das quais 385 foram positivas. Destas, 334 pertenciam a indivíduos do género feminino e 53 do género masculino, as bactérias responsáveis pela infeção, com maior frequência foram : *E.coli*, (63,3%), *Proteus spp.* (11.9%), *Enterococcus spp.* (7%) e a *Klebsiella spp.* (6%). Deste modo o estudo concluiu que as percentagens verificadas de agentes infecciosos responsáveis pelas ITUs, vão de acordo com os padrões encontrados em estudos internacionais ⁽³²⁾.

2.6 Manifestações clínicas

A cistite caracteriza-se pela presença de disuria, polaquiúria, micção forçada e frequente acompanhada de dor suprabúbica, urina fétida e hematúria, em mulheres e principalmente nos idosos é relativamente frequente a incontinência urinária ^(9,14). A presença de febre, dor lombar e com ocorrência de uma menor frequência de náuseas e vômitos indicam uma pielonefrite; em recém-nascidos e em idosos os sintomas não são tão característicos e o motivo que os leva a consulta são, sintomas abdominais ou respiratórios^(9,15,16). Se o doente apresentar dores cólico-lombar e horas ou dias depois febre acompanhada de incontinência urinária, deve suspeitar-se de uma obstrução urinária que posteriormente foi causando infeção, nestes casos requer-se uma ecografia urgente e uma drenagem imediata se se confirmar a obstrução , pelo contrário pode evoluir para um choque septico, pielonefroze, abscesso renal ou perinéfrico ^(9,17). Na bacteriúria assintomática(BA) o doente não apresenta manifestações clínicas mas durante o exame é observada uma leucocitúria acompanhada de bacteriúria, ela é comum em mulheres jovens saudáveis em grávidas em diabéticos e nos idosos ^(9,11,18). A BA pode causar complicações graves em crianças menores de 5 anos de idade, em doentes submetidos a manipulações das vias urinárias, em transplantados renais e em mulheres grávidas^(9,11). Quando não tratada em grávidas duplica o risco de partos prematuros e aumenta em 50% o risco de recém-nascidos com baixo peso ^(9,11).

As complicações médicas graves que necessitam de tratamento quando estamos frente a uma bacteriúria assintomática, acontecem apenas em algumas situações tais como: mulheres grávidas, em mulheres que são submetidas a procedimentos genitourinário invasivo, em crianças com idade inferior a 5 anos e em receptor de transplantes renais^(9,19,20).

2.7 Fatores de risco

Existem determinados fatores de risco das infecções do trato urinário, que facilitam a entrada das bactérias a bexiga, fatores esses que podem ser a nível do hospedeiro ou ao nível do patógeno. A nível do hospedeiro é de considerar que fatores anatómicos, genéticos e relacionados ao sistema imunitário, contribuem para o aparecimento das infecções do trato urinário, já a nível do patógeno está relacionado com a capacidade de adesão, virulência e motilidade do patógeno^(9,21).

2.7.1 Obstrução do trato urinário

A obstrução do trato urinário é um bloqueio que impede o fluxo normal da urina e com isso aumenta o risco de se desenvolver uma infecção urinária, a obstrução condiciona a passagem da urina e facilita a proliferação e aderência de bactérias nas células do epitélio urinário. Essa obstrução pode desencadear-se em diversas áreas do TU, por exemplo a obstrução pielo-ureteral e ureter-vesical, ureter ectópico e as válvulas da uretra posterior. A obstrução pielo-ureteral ocorre quando há restrição do fluxo da urina da pelve renal para o ureter proximal, com dilatação do sistema coletor e invasão renal. Esta obstrução constitui a causa mais comum de hidronefrose neonatal^(9,24).

2.6.2 Risco na cateterização

Em doentes com cateter vesical os microrganismos podem atingir a bexiga no momento da colocação do cateter ou a manutenção. Quando implantado, o cateter é conectado a um sistema coletor de urina que poderá ser aberto ou fechado. Com o sistema aberto o mecanismo primordial de infeção dá-se através do lúmen do cateter, desenvolvendo assim uma rápida bacteriúria. Quando estamos perante um sistema fechado, a infiltração de microrganismo dá-se principalmente pela conexão mucosa-cateter, desenvolvendo uma bacteriúria tardia ⁽⁹⁾.

2.6.3 Gravidez

O predomínio de infeções assintomática na gravidez é de até 10%, podendo ser observada no princípio da gestação até ao 3º trimestre, 25 a 57% destas bacteriúrias não tratadas podem evoluir para infeção sintomática, devido a dilatação fisiológica do ureter e pélvis renal ^(9,23,26,27,35,36).

2.6.4 Transplante renal

A probabilidade da infeção urinária em transplantados é de 35% a 80%. A maioria delas são assintomáticas, mas em 45% são recorrentes. Os microrganismos, são adquiridos a partir do rim doador, de cateteres urinários, da ferida cirúrgica e de ambientes hospitalares ^(23,34,35).

2.6.5 Bexiga neurogénica

Define-se como bexiga neurogénica, a perda do funcionamento normal da bexiga, provocado por lesões de uma parte do sistema nervoso. Ela pode ter origem de um trauma, defeitos de nascença ou de uma doença que afeta o cérebro, os nervos que se dirigem para a bexiga e seus esfíncteres e a medula espinal. Existem alguns tipos de bexiga neurogénica que podem ser: de baixa atividade ou hipotónica quando é incapaz de contrair e de esvaziar bem, ou hiperativa, quando se esvazia por reflexos incontrolados ^(34,35,36).

2.6.6 Crianças não circuncisadas

Crianças do género masculino não circuncisadas são mais propensas em terem uma ITS em relação a crianças circuncisadas, isto deve-se a presença do prepúcio como alvo de colonização, simultaneamente com o sistema imune da criança que ainda é imaturo ^(34,35).

2.7 Diagnóstico

Para o diagnóstico das ITUs é bastante importante estabelecer alguns critérios, pois o tratamento tem de ser instituído o mais rápido possível, porque o atraso no diagnóstico e do início da medicação pode dirigir a lesões renais irreversíveis ^(22,38,39,40). Este diagnóstico nem sempre é fácil, e por isso deve ser baseado em três pilares muito importantes:

- 1- A cultura da urina, que permite o isolamento e identificação do patógeno e estudar a sua sensibilidade frente aos agentes antimicrobianos
- 2- O exame dos elementos da urina que relata a presença de leucócitos, que traduzem danos teciduais ou presença de células epiteliais e microrganismos da flora periuretral que indicam condições precárias na colheita da amostra.
- 3- O exame direto pelo Gram, que permite diferenciar uma bactéria Gram negativa de uma bactéria Gram positiva.

Um diagnóstico viável de infeção urinária resulta da junção de manifestações clínicas sugestiva com uma análise de urina com fita reagente positiva e uma análise citotóxica de urina positiva ⁽⁴¹⁾. A análise da urina com a fita reagente é considerada positiva quando os parâmetros da enzima esterase leucocitária (EL) e nitritos são positivos ^(38,41). Após um diagnóstico bioquímico sugestivo de infeção urinária, é necessário fazer a confirmação com o exame microbiológico que envolve o exame direto (coloração de Gram) e o exame cultural da urina ^(40,41). Para o exame cultural da urina são necessários meios seletivos e não seletivos. Os meios seletivos são aqueles que foram fabricados para o crescimento de alguns microrganismos específicos, como por exemplo o meio agar MacConkey

onde crescem apenas as bactérias Gram-negativo e o crescimento das Gram-positivo é inibido pelos sais biliares que compõe o meio, já os meios não seletivos são aqueles em que neles crescem todo o tipo de microrganismos nomeadamente o meio de gelose de sangue onde crescem todo o tipo de bactérias e fungos ^(40,41).

Geralmente o agar MacConkey e o agar sangue são suficientes para a detenção de microrganismos responsáveis pelas ITUs, em alguns laboratórios, onde atendem primeiramente doentes do ambulatório, dos quais a *Escherichia coli* é o patógeno mais frequente, optam em usar o agar eosina azul de metileno (**EMB**), devido a característica morfológica da *E. coli*. Outros meios como o colistina-ácido nalidíxico (**CNA**) que é um meio seletivo para as bactérias Gram-positivo, também são utilizados em alguns casos ⁽⁴¹⁾.

Após a colocação da amostra com ajuda de uma ansa calibrada, a superfície de cada uma das placas de agar devem ser totalmente semeadas em todos os quadrantes, para que as contagens semi-quantitativo das colónias passam a ser feitas após a incubação. As culturas de urina, obtidas por punção supra-púbica ou por cateter, são analisadas geralmente de uma forma mais detalhada, mesmo quando apresentam baixa contagem de colónias ou com isolamento de mais do que um tipo de microrganismo ^(9,40,41).

Em laboratórios com um elevado número de amostras que varia de 100- 150 amostras diárias, é muito trabalhoso cultivar todas elas, nestes laboratórios é necessário descartar as urinas com bacteriúria não significativa ou negativas através de sistemas automatizados e cultivar apenas as amostras que o sistema automatizado detetar como positivas. Entre os sistemas automatizados, existem aqueles que detetam exclusivamente bactérias e os que detetam simultaneamente bactérias, leucócitos, eritrócitos e outros elementos ⁽⁴⁰⁾.

Triagem da bacteriúria

Quando há presença de bactérias na urina ou bacteriúria é sugestivo de uma infeção urinária, porem não se pode esquecer que existem microrganismos que colonizam frequentemente a uretra distal dos indivíduos e que raramente causam infeções do trato urinário. Ela pode ser avaliada pelo exame microscópico, por cultura e por testes de produtos bacterianos ^(9,41). Para o exame microscópico a

coloração de Gram é o método rápido e barato para se avaliar a bacteriúria. Portanto a visualização de bactérias na coloração de Gram, pode indicar uma infecção urinária como também pode ser o resultado de uma amostra colhida inadequadamente ou que permaneceu à temperatura ambiente em um período de tempo prolongado até a sua manipulação. Algumas vezes a urina das mulheres adultas pode apresentar hematúria quando estas estão menstruadas. Em indivíduos saudáveis, os leucócitos estão presentes em números muito reduzidos (41,42). A leucocitúria reflete a possibilidade de resposta inflamatória do sistema urinário, uma das causas mais comum é a infecção bacteriana que é confirmada com o exame microbiológico da urina. Existe algumas situações clínicas onde a leucocitúria pode ser evidenciada:

a) Leucocitúria não infecciosas

- Neoplasias
- Rejeição do transplante renal
- Trauma geniturinário
- Neoplasias
- Glomerulonefrite
- Cálculos renais e corpos estranho

b) Leucocitúria infecciosa

- Bactérias
- Fungos
- Parasitas

A leucocitúria estéril é um achado significativo que pode retratar algumas infecções com microrganismos que não são detectados pelo método de cultura convencional da urina tais como as micobactérias (41).

Deteção da bacteriúria por microscopia

A bacteriúria pode ser detectada por meio da microscopia, usando a observação a fresco ou usando a coloração de Gram que é frequentemente a mais utilizada. A coloração de Gram da urina não centrifugada fornece informações imediatas sobre a natureza da infecção e consequentemente serve para o clínico selecionar o tratamento empírico. A coloração de Gram é um método simples e rápido, em

que uma quantidade mínima de urina é colocada em uma lamina de vidro, fixada no calor e corada com corantes específicos ^(40,41).

Deteção da bacteriúria baseando-se na atividade do nitrato reduzido

A bacteriúria pode ser detetada quando as bactérias presentes na urina, são capazes de reduzir o nitrato a nitrito. A especificidade deste exame é limitada em microrganismos pertencentes à família das Enterobacteriaceae, ele não é útil em casos de infecção por *Pseudomonas spp*, *Enterococcus spp*, ou *Staphilococcus Saprophyticus*, que não produzem nitrato redutase ⁽⁴¹⁾.

Deteção simultânea da atividade do nitrato redutase e esterase leucocitária

Existem alguns sistemas comerciais capazes de detetar simultaneamente nitrito e esterase leucocitária, como indicadores da presença de bactérias e leucócitos na urina. Quando avaliados simultaneamente, melhora a capacidade de detetar uma infecção do trato urinário, especialmente quando a bacteriúria é importante. A deteção simultânea de nitritos e esterase leucocitária (LE), serve principalmente para descartar a bacteriúria com base a um resultado negativo ⁽⁴¹⁾.

Deteção da bacteriúria e leucocitúria com base em equipamentos automáticos

Atualmente existem no mercado sistemas automatizados que permitem uma triagem rápida da urina, para se detetar presença de bactérias ou leucócitos e selecioná-las para cultura convencional. Um destes sistemas é o “Iris IQ200” que associa o citómetro de fluxo a um sistema de captura de imagens digitais. O sistema “Sysmex UF 1000” também usa a citometria de fluxo, classificando as partículas presentes na urina de acordo com a sua intensidade de fluorescência com coloração prévia com dois corantes: a fenantridina com apetência aos ácidos nucleicos e a carbocianina com afinidade pelos fosfolípidos da membrana celular e mitocôndria. Este sistema utiliza um canal separado para a contagem bacteriana ⁽⁴⁰⁾. O sistema automatizado “Cellenium 160US” utiliza sondas fluorescentes capazes de se ligar às bactérias, leveduras e leucócitos, acoplados a um sistema computadorizado de análise de imagem, com um limiar de deteção bacteriana de 10^4 ufc/ml ⁽⁴⁰⁾.

A avaliação geral desses sistemas demonstra a sua utilidade para o rastreio das urinas. O sistema “Iris IQ200” tem uma sensibilidade de 68%, uma especificidade de 80%, um valor preditivo positivo de 60% e um valor preditivo negativo de 86% em comparação a cultura convencional. O sistema “Sysmex 1000i”, usando o ponto de corte de 125 bactérias/mL, tem uma sensibilidade de 87%, uma especificidade de 79%, um valor preditivo negativo de 92% e um valor preditivo positivo de 72%, em comparação com a cultura convencional com um ponto de corte de 100.000 ufc/ml. O sistema Cellenium 160US, também comparado com a cultura convencional, apresenta um valor de 89,5 de sensibilidade, uma especificidade de 94,4%, um valor preditivo negativo de 97,1% e um valor preditivo positivo de 81% ⁽⁴⁰⁾.

Em geral pode-se deduzir que a sensibilidade e especificidade dos diferentes sistemas automatizados dependem do ponto de corte usado para determinar uma bacteriúria significativa ⁽⁴⁰⁾.

Deteção da bacteriúria por cultura

A urocultura é um método simples para a triagem da bacteriúria e vem sendo uma técnica indispensável no diagnóstico da ITUs, não só para comprovar a existência de uma infecção, mas também para se identificar o microrganismo infetante e a sua sensibilidade aos antimicrobianos; embora precise de 24h de incubação para se fazer a leitura ^(40,41,42). Alguns clínicos preferem inserir uma lâmina de imersão em urina no consultório, em vez de enviar a urina no laboratório para fazer uma cultura ^(40,41,42). A lâmina de imersão é uma minúscula espátula recoberta com ágar em ambos os lados com fim de colher bactérias Gram-positivo e Gram-negativo. A minúscula espátula é imersa na urina, escorrida e posteriormente é recolada no seu frasco e incubada, a quantidade de crescimento é avaliada em a comparação com uma tabela. É de salientar que as laminas de imersão não são testes de diagnóstico definitivo. Para fazer urocultura utiliza-se uma ansa calibrada estéril e meios de cultura adequados. Esse método baseia-se na utilização da urina não centrifugada para a cultura utilizando uma ansa de plástico ou platina de diâmetro calibrado capaz de carregar uma quantidade exata de urina para padronizar o fator de diluição ^(40,41).

Outros exames laboratoriais que auxiliam no diagnóstico das ITUs são: o hemograma e hemocultura. A hemocultura positiva indica a presença de microrganismo no Sangue, proveniente de um determinado local do organismo humano ^(9,11,41). Elas são frequentemente realizadas em doentes com pielonefrite aguda, cerca de 12 a 20% dos doentes com pielonefrite aguda têm bacteriemia, os idosos e os doentes que tem pielonefrite aguda complicada têm maior probabilidade de desenvolverem uma sepsis e bacteriemia ⁽⁴⁰⁾.

2.8 Tratamento

No tratamento com antimicrobiano nas infecções urinárias, deve-se ter em conta diversos fatores, como o tipo de infecção, o conhecimento do agente causador da infecção e o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos do agente etiológico, de modo a iniciar a terapêutica adequada. Portanto o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de um mesmo agente, pode variar de uma maneira alargada entre as regiões geográficas de um mesmo país ou de países diferentes, o que torna difícil fazer a generalização ^(9,23,43).

É de bastante importância selecionar inicialmente de maneira empírica um fármaco apropriado para a terapêutica, até se ter os resultados da urocultura e do TSA, procurando sempre administrar um antibiótico com alta eficácia sobre o agente suspeito, de concentrações altas na via urinária e de baixa toxicidade. É importante também selecionar antibióticos que apresentam alta concentração no parênquima renal, na camada mais profunda da bexiga e da próstata ^(9,44).

Fazem parte do esquema terapêutico das infecções urinárias as seguintes classes de antibióticos:

Anti-parietais: neles incluem antibióticos que inibem biossíntese do peptidoglicano; são eles: a fosfomicina, glicopéptidos e antibióticos β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactams e carbapenems); **Inibidores da síntese proteica:** Aminoglicosídeos; **Inibidores da síntese dos ácidos nucleicos:** quinolonas; **Anti metabólitos:** sulfonamidas e trimetoprim, e outros ^(9,11).

Um dos aspectos muito importante acerca da terapêutica é o tempo de duração, devendo-se ter em conta que a administração em curta duração é mais fácil de

seguir, tem o custo menos elevado e as reações adversas surgem com menos regularidade ^(9,43). Portanto não desprezando as despesas relacionadas recorrências ou falhas no tratamento.

O tratamento das infecções urinárias baixas, adquiridas na comunidade em mulheres jovens com o sistema imunológico normal e sem fatores de risco associados a ocorrência de infecções do trato urinário complicada, pode-se administrar empiricamente os fármacos sem a solicitação de uma urocultura. Para o efeito o doente deve apresentar dois ou mais sintomas sugestivos de uma ITU, como urgência em urinar, disúria, polaquiúria e dor supra-púbica, associado ao encontro de leucócitos na urina do tipo1. As possibilidades disponíveis para a terapêutica em gestantes são os β -lactâmicos, fosfomicina e nitrofurantoína ^(44,45).

O uso da sulfametoxazol mais o trimetoprim, largamente expandido em guias internacionais, deverá baseara-se em testes de sensibilidade aos antimicrobianos antes de ser utilizado e não em tratamento empírico, devido ao crescimento de casos de resistência deste fármaco em isolados de *Escherichia coli*. Uma boa opção terapêutica da cistite em doentes do género masculino é a ciprofloxacina, com a duração do tratamento de 10 a 14 dias ^(45,46).

A classe dos aminoglicosídeos, tem o uso restrito devido o seu alto potencial de nefrotoxicidade, apesar de apresentarem uma excelente ação contra as enterobactérias do TU ^(44,46).

A pielonefrite não complicada em uma fase inicial, pode ser tratada em processo ambulatorio com uma revisão a cada 48h, para controlar a efetividade do tratamento, mas em doentes com fatores associados a ocorrência de infecção do trato urinário complicada, devem ser internados; nestes doentes o uso de antimicrobianos endovenosos devem ser estabelecidos até que o doente apresente um quadro clínico isento de febres, por um período de 48 a 72 horas, e posteriormente recorrerem a terapia por via oral. Em casos de bacteriúria assintomática, deve-se tratar apenas em mulheres grávidas, doentes submetidos a transplante e pré-operatório de colocação de prótese, o tratamento deve instituir-se quando guiados por um antibiograma ^(27,43,46).

Quando estamos perante a uma ITU causada por fungos, a abordagem é semelhante aos agentes bacterianos, a *Candida* assintomática em doentes sem fatores de risco não deverá receber tratamentos; já na presença de fatores de risco o doente deve iniciar o tratamento após a confirmação da urocultura, pois existem resistência de fármacos comumente utilizados na abordagem empírica, quando a abordagem empírica é necessária. Em casos em que o agente fúngico é resistente ao fluconazol, deve-se administrar a anfotericina B ⁽⁹⁾.

CAPÍTULO 3 - ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

No decorrer do estágio, a estudante teve a oportunidade de constatar a importância de se fazer um diagnóstico minucioso das infecções do trato urinário e também teve a oportunidade de avaliar a importância como elemento fundamental o médico patologista clínico no diagnóstico da mesma, desde a gestão dos pedidos, receção da amostra, exame microbiológico até a geração dos resultados, orientando assim o início de uma terapêutica adequada, de acordo ao microrganismo encontrado.

Na primeira fase a estudante tomou conhecimento da estrutura organizacional e funcional das áreas que compõem o laboratório de microbiologia; obteve conhecimento sobre a classificação, composição e função dos diversos meios de cultura utilizados na secção das urinas.

Aprofundou conhecimentos relacionados com as diversas fases do exame microbiológico das urinas, desde as técnicas de colheita, conservação, transporte e receção da amostra no LB, processamento da amostra até a interpretação, validação e apresentação dos resultados. Estudou os critérios de aceitação e rejeição da amostra, os mecanismos fisiopatológicos das infecções urinárias, assim como as suas manifestações clínicas e laboratoriais. Procurou conhecer as metodologias utilizadas no diagnóstico das infecções urinárias, as características e princípios de funcionamento dos equipamentos automatizados.

A estudante foi também sensibilizada acerca de alguns aspetos fundamentais de boas práticas em Microbiologia, abrangente em todos os setores, que garantem a obtenção de resultados com qualidade; o cumprimento de normas de colheita, transporte e conservação adequada das amostras de urina, segundo as normas de recomendação de colheita e transporte do produto urinário. Obteve também informação da importância da localização anatómica onde foi colhida a amostra e o quanto é importante respeitar o intervalo entre a hora da colheita e o processamento da amostra, porque pode condicionar a qualidade do resultado.

A informação clínica nos pedidos é importante, nomeadamente sobre os diagnósticos anteriores e situação clínica atual, bem como a presença de dispositivos médicos como por exemplo, se o doente está algaliado.

A estudante integrou-se na rotina de trabalho do seu orientador, acompanhando e participando na realização interpretação e validação biopatológica do exame microbiológico. Com isso, teve assim a oportunidade de adquirir competências técnicas do processamento da urina, tais como:

- Preparação da amostra para exames bacteriológico, micológico parasitológico e avaliação do seu aspeto macroscópico;
- Papel da citometria de fluxo;
- Execução e observação de esfregaço para exame direto/microscópico com coloração e a fresco;
- Sementeira da amostra em meios de cultura;
- Valorização do crescimento bacteriano com base no exame direto, cultural e no contexto clínico do doente.

Paralelamente a estudante também assistiu algumas sessões clínicas e reuniões semanais no LM.

3.1 Fase pré-analítica

A fase pré-analítica é definida como um conjunto de todos os procedimentos realizados desde o pedido do médico, incluindo a requisição, preparação do doente, colheita da amostra e transporte para o laboratório, terminando onde o processo analítico dá o seu início.

A fase pré-analítica é a etapa, mas crucial num laboratório clínico. É nesta fase onde acontece uma percentagem significativa dos principais erros laboratoriais; estes erros constam-se como por exemplo a má preparação do doente antes de fazer a colheita, a identificação incorreta da amostra, ou a má conservação da amostra. Por isso, de modo a minimizar estes erros, o doente deve ser bem esclarecido quanto à técnica de colheita da amostra e o técnico deve verificar se o doente cumpriu com os requisitos. Salientando que é bastante importante que sempre que a amostra não apresentar condições para a execução analítica deve ser rejeitada e se é possível colher-se outra para poder-se evitar erros que possam surgir nesta fase.

Logo após a preparação do doente, onde o médico ou o técnico explicará a técnica correta de fazer a assepsia antes de realizar a colheita da amostra, segue-se o procedimento da colheita. Para a obtenção de uma boa amostra, é necessário que se faça uma boa colheita da mesma, ela deve ser colocada em frascos apropriados e identificados corretamente.

3.1.1 Preparação do doente para a colheita da amostra

A preparação do doente e a colheita da amostra fazem parte da primeira fase do exame de urina. O doente é informado de que para a realização do exame solicitado, uma amostra de urina deverá ser colhida e ele é orientado de como será feita a colheita desta para o exame solicitado. Estas orientações são importantes para que o resultado da análise a realizar permita a interpretação confiável. Estas orientações são fornecidas oralmente e por escrito. É gerado uma ficha de utente, com o respetivo código de barras exclusivo para cada um que é obtido a partir do sistema informático, onde são associados todos os exames prescritos pelo médico.

3.1.2 Técnicas para a colheita da amostra

Para a obtenção de um bom diagnóstico laboratorial, é necessário que as amostras estejam com uma boa qualidade e em quantidade suficiente, colhida adequadamente e acompanhadas com informação clínica pertinente. Toda a amostra deve ser considerada como um produto com potencial risco biológico, por isso os técnicos de saúde devem seguir as normas de biossegurança ao manusearem estas amostras biológicas.

No ato da colheita e manuseio da urina, deve-se utilizar luvas, bata e avental, deve-se também ter muito cuidado para não contaminar a superfície exterior do frasco de colheita e da requisição acompanhante; quando a urina é colhida por aspiração com agulha e seringa, deve ser transferido para um frasco estéril e se se der o caso de transportar a urina em seringa, deve-se retirar cuidadosamente a agulha , fechar a seringa e identificá-la. Por medidas de segurança, os recipientes

ou requisições que visivelmente estão conspurcados com a amostra não devem ser aceites no laboratório.

As amostras são preferencialmente colhidas antes do início de qualquer terapêutica antibiótica. No entanto, se o doente estiver sob antibioterapia, coloca-se sempre uma nota na requisição com esta afirmação. Por último e não menos importante, as amostras são identificadas com uma etiqueta contendo o código de barra correspondente a cada doente.

Técnicas de colheita/tipo de amostra de urina processada no LMB do CHULN

- Aspirado supra-púbico
- Cateter urinário
- Jato médio (o mais frequente)
- Nefrostomia/ Urostomia
- Saco coletor (em crianças que não tem controlo do esfíncter)

a) Técnica de colheita da urina com a punção supra-púbica

Antes da colheita, o doente deve encontrar-se com a bexiga cheia, e a pele da região supra-púbica deve ser desinfetada com uma solução antisséptica. Com a ajuda de uma agulha e seringa esterilizada, puncionar a pele e a bexiga a nível do 1/3 inferior da linha que une o umbigo à sínfise púbica; aspirar a urina e colocá-la em um recipiente esterilizado ou enviar na própria seringa após a remoção da agulha.

b) Jato Médio, Mulheres

A urina deve ser colhida na primeira micção matinal ou se impossível colher a urina pelo menos depois de ter estado duas horas sem urinar

Antes de iniciar a colheita deve se lavar bem as mãos com água corrente e sabão. Na própria colheita, deve-se lavar bem os órgãos genitais de frente para trás, com uma compressa de cada vez, usando água e sabão neutro. Não se

deve usar antisséptico, porque estes podem inibir o crescimento dos microrganismos. O procedimento deve ser repetido durante três vezes, usando o mesmo processo, lavar só com água esterilizada e secar, posteriormente deve se iniciar a micção desprezando primeiro jato e colher 10-20 cm³ para o recipiente esterilizado de boca larga.

Jato Médio, homens

Antes de iniciar a colheita, efetuar a lavagem das mãos, afastar o prepúcio e manter essa posição durante toda colheita, limpar a glândula com uma compressa embebida em água e sabão, usando o mesmo processo, lavar apenas com água esterilizada e secar, posteriormente deve se iniciar a micção desprezando primeiro jato e colher 10-20 cm³ para o recipiente esterilizado de boca larga.

c) Saco coletor (em crianças)

Lavar bem a área genital com água e sabão, limpar com água esterilizada e secar com uma compressa esterilizada. Aplicar um saco autocolante estéril que após a criança urinar deve-se transferir para um recipiente esterilizado. É de salientar que após 3 horas se a criança não urinar, deve se repetir o processo do início.

d) Punção do cateter urinário em doentes algaliados

Clampar a algália durante 10-15 minutos acima da derivação na zona de borracha; desinfetar com álcool a 70% o local a puncionar; com uma agulha e seringa esterilizada aspirar a urina de 5 a 10 ml, transferir a urina para um recipiente esterilizado.

Após a colheita, as amostras de urina são transportadas para o laboratório.

3.1.3 Frascos adequados para a colheita da amostra

O frasco utilizado para a colheita da urina é translúcido/ transparente e completamente limpo, e tem a capacidade de armazenar de 50 a 100ml de urina, com abertura de no mínimo 5 cm de diâmetro. Para facilitar a colheita da amostra,

é recomendado também que o frasco tenha uma base ampla para facilitar o equilíbrio do próprio frasco.

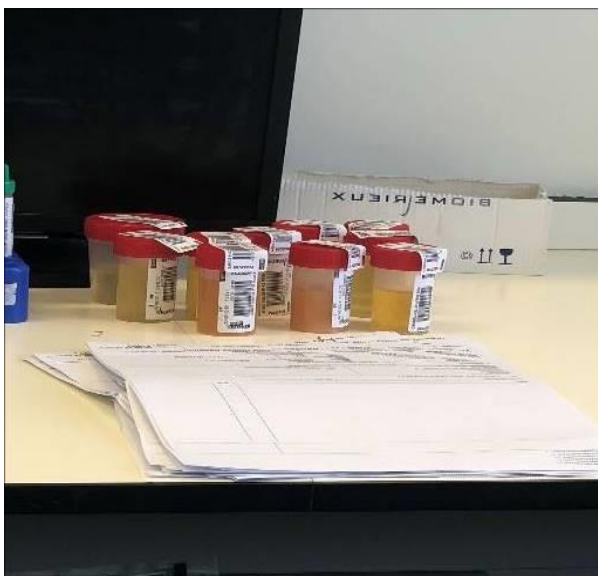


Figura 2- Frasco apropriado para colheita da urina (Fonte: LMB CHLN)

Triagem e conservação da amostra

No laboratório de microbiologia do Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte existe um sistema informático laboratorial denominado Clinidata®XXI, que é um sistema de gestão de laboratório de análises clínicas e de diagnóstico, desenvolvido pela Maxdata. Através do Clinidata®XXI a amostra segue uma linha de análises.

O Clinidata®XXI é uma área de interação entre plataformas informáticas e tem como objetivo realizar e encaminhar processos laboratoriais. Este processo inclui a entrada da amostra, validação, monitorização do controlo de qualidade, distribuição das amostras no setor de equipamentos onde são realizadas as análises, arquivo de amostras biológicas e o descarte das amostras. O Clinidata®XXI é programado para as necessidades do laboratório, iniciando na receção onde se obtêm as etiquetas segundo o processo de cada utente, estas

etiquetas apresentam um código de barra que é único e exclusivo para cada utente.

Sempre que termina um processo da análise da amostra em um dos equipamentos, esta informação passa para o Clinidata@XXI, para se verificar qual é o passo a seguir, caso a amostra tivesse sido analisada na sua totalidade, a mesma é encaminhada para o arquivo.

As amostras de urina, devem ser analisadas em um intervalo de duas horas após a colheita, caso contrário são conservadas em uma temperatura de 2 a 8°C e em frascos contendo o ácido bórico até no máximo 48h (imagem 3).



Figura 3- Frasco de conservação da urina, contendo ácido bórico (Fonte: LMB CHULN)

3.2. Fase Analítica

A fase analítica é a fase onde ocorre a realização da análise. Nela inclui os métodos laboratoriais, preparação de soluções de reagentes, manutenção dos equipamentos, calibração e controlo de qualidade interno.

Após a chegada das amostras ao laboratório, faz-se a confirmação das amostras com as suas respetivas requisições e posteriormente são transferidas para um tubo cónico devidamente identificados e são colocados no citómetro para o rastreio e seleção das urinas que necessitam de ser semeadas e aquelas que o equipamento deteta como negativa, segundo pontos de corte definidos pelo laboratório, têm a probabilidade de ter o resultado no mesmo dia. Já as urinas que o aparelho orienta para ser revistas são semeadas em meio de cultura.

Salientando que antes do processo de cada etapa da fase analítica, é realizado o controlo de qualidade interno do equipamento utilizado para o propósito.

3.2.1 Rastreio

Actualmente são utilizados alguns equipamentos automatizados como a citometria de fluxo, utilizados principalmente na quantificação de células na urina, como por exemplo, bactérias, leucócitos e eritrócitos. Estes equipamentos permitem rapidez e eficiência no processo de diagnóstico. No LAB de Microbiologia do SPC do CHULN, é utilizado o citómetro Sysmex®UF1000i.

Então em primeiro lugar, é efetuado um "screening" por citometria de fluxo, utilizando o SYSMEX®-UF1000i, que apoia na seleção das amostras para a realização do exame cultural; as amostras com contagem inferior de leucócitos, eritrócitos e bactérias comparando aos *cut-off* definidos, bem como sem alarme de leveduras, são consideradas negativas e na maioria dos casos não necessitam de prosseguir outras fases do exame. Nesta situação tem-se em atenção o tipo de colheita e o contexto clínico. É de salientar que as amostras que apresentam hematúria, aspeto purulento e as turvas, não são colocadas no equipamento pelo risco de ocorrer entupimento da agulha de aspiração e são sempre semeadas.



Figura 4- equipamento SYSMEX®-UF1000 (Fonte: LMB CHLN)

VANTAGENS

- Resultados negativos no mesmo dia;
- Processamento de até 100 amostras /h;

- Fácil manuseio através de painéis indicativos;
- Diminui o número de culturas diárias desnecessárias.

3.2.2 Exame cultural e direto

Quando o "screening" é positivo, as amostras são semeadas. Logo após a incubação da mesma, se se observar desenvolvimento microbiano, e sempre que se justifique pelos dados do citômetro e pela informação clínica observa-se o esfregaço da urina corado pelo método de Gram.

O exame cultural é avaliado de uma forma semi-quantitativa, em que a partir de uma urina não centrifugada e homogeneizada é feita a sementeira nos quatros quadrantes que compõe o meio com uma ansa calibrada de 10 µL em gelose de sangue e gelose MacConkey, deixando incubado durante 18-24h em estufa de 35°C em aerobiose. As culturas positivas que cumprem com critérios de valorização, em coerência com a informação clínico-laboratorial do doente, são posteriormente processadas na secção dos antibiogramas.



Figura 5- Cultura em gelose sangue (Fonte: LMB CHULN).



Figura 6- Cultura em gelose MacConkey com crescimento de bactérias fermentadora de lactose (Fonte: LMB CHULN).

A coloração do esfregaço pelo método de Gram é realizada pelos técnicos, a pedido do médico, logo após efetuar o rastreio prévio dos meios de cultura com desenvolvimento bacteriológico ou suspeita clínica de ITU.

A coloração de Gram no Laboratório de Microbiologia do CHULN é realizado num equipamento denominado Aerospray® Gram que é um sistema automatizado de coloração de Gram. As lâminas contendo as amostras(urina) são coradas para diferenciar as bactérias Gram positivo dos Gram negativo. Apesar da coloração de Gram estar direcionada para observação de bactérias, as leveduras na urina são também, por rotina, observadas desta forma no exame direto.

Coloração de Gram automatizada

Com ajuda de uma ansa estéril coloca-se uma gota da amostra, sobre uma lamina de vidro; fixar em chama com ajuda do bico de bunsen; montar as laminas em um carrossel giratório.

Para dar a iniciação da coloração, as laminas são pulverizadas com o corante cristal violeta e o excesso é removido por centrifugação e lavado com água desionizada; posteriormente é pulverizado com o reagente iodo o excesso é separado e enxaguado da lamina com água desionizada; é aplicado o

descolorante para remover o conjunto de cristal-violeta-iodo que descorará apenas os microrganismos Gram-negativo devido a fina camada de peptidoglicano da parede celular; finalmente é colocado o corante fucsina ou safranina que cora as bactérias Gram negativo em vermelho.

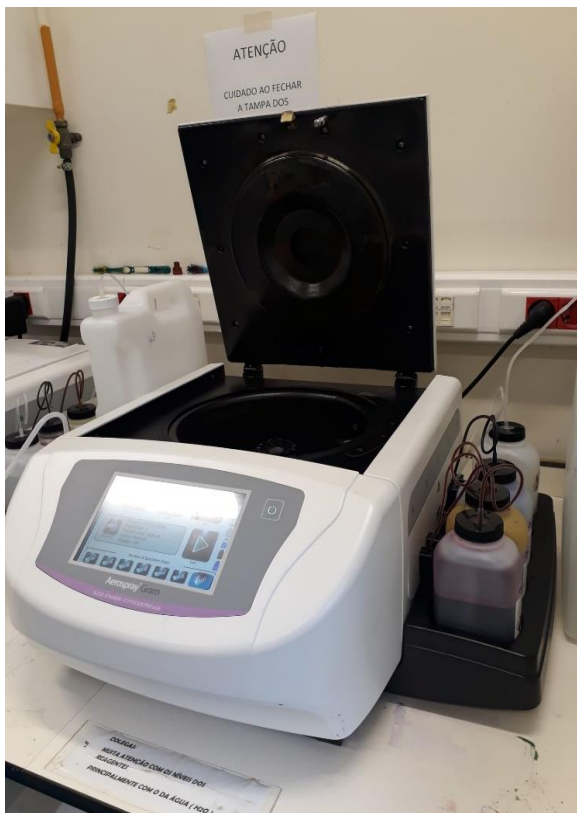


Figura 7- Equipamento Aerospray® Gram.
(Fonte: LMB CHLN)



Figura 6- Suporte giratório para as laminas. (Fonte: LMB CHLN).

3.2.3 Exame Micológico

As uroculturas com crescimento suspeito de fungos, ficam 24h adicionais em temperatura ambiente se necessário e são avaliadas após este período, procedendo então ao estudo dos elementos leveduriformes observados pelo teste de RB (Reynolds Braude) ou prova de filamentação. Esta técnica permite uma identificação rápida de *Candida albicans*.

Procedimentos

Retirar da placa uma colônia; suspender a colônia em soro humano e incubar em uma temperatura de 37°C durante duas horas ou mais. Após passar o tempo de

incubação, colocar uma gota da suspensão em uma lâmina, cobrir com uma lamela e observar no microscópio ótico. Se o resultado desta prova for duvidoso ou se estiver na presença de uma *Candida* não *Albicans*, será necessário proceder-se a identificação bioquímica ou no Maldi-TOF do fungo em equipamento automatizado. O antifungigrama nas urinas só é realizado em casos selecionados.

3.2.4 Exame Parasitológico

Algumas requisições chegam com o pedido de exame parasitológico para a pesquisa do *Schistosoma Haematobium*. A colheita de urina do doente, idealmente deve ser realizada após esforço físico, como por exemplo saltar corda ou subir escadas. No Laboratório, a pesquisa de parasita é realizada através de exame direto (a fresco) da amostra centrifugada, devendo-se ter o cuidado de ver vários "frescos" do sedimento ao microscópio ótico. Quando positivo, observam-se ovos de *Schistosoma Haematobium* e realiza-se a sua semi-quantificação.

Existe também um critério de classificação da amostra de urocultura que é a conspurcação. Consideram-se amostras conspurcadas todas as uroculturas que apresentam mais de 2 agentes microbianos em quantidade significativa. A valorização de mais agentes microbianos dá-se em casos bem selecionados, em particular se a colheita não for proveniente do usual "jato médio".

3.2.5 Identificação e Antibiograma

A etapa final do exame microbiológico das ITUs, corresponde a identificação dos agentes etiológicos e aos testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA), para se orientar a terapêutica de uma forma dirigida.

Para a identificação das bactérias responsáveis pelas UTIs, faz-se algumas provas rápidas metabólicas tais como:

Teste do citocromo oxidase: este procedimento serve para determinar a presença ou ausência de atividade da oxidase no citocromo C das bactérias, eles são hemoproteínas que atuam como elo final da cadeia de respiração aeróbia, transferindo eletrões de hidrogénio á oxigénio, com a formação de água. O teste

utiliza um corante que substitui o oxigénio como aceitador do hidrogénio, permitindo o aparecimento da cor.

Procedimentos: para a identificação da oxidase, utilizam-se tiras de papel de filtro comercial, onde colocam-se algumas gotas do reagente tetrameti-p-fenilenedimina dihidroclorato e com ácido ascórbico; com ajuda de uma ansa estéril não metálica, retira-se uma colónia a estudar e coloca-se sobre o papel de filtro. As colónias com bactérias que contêm as enzimas oxidase desenvolvem uma cor rocha escura em menos de 10 segundos. Este teste permite diferenciar por exemplo colónias de *Pseudomonas* spp de outras colónias não fermentadoras de lactose.

Teste da catalase: neste teste a enzima catalase desdobra o peróxido de hidrogénio em água e oxigénio e serve para diferenciar o *Staphylococcus* spp de um *Streptococcus* spp/*Enterococcus* spp. Quando é positivo indica-nos a presença de um *Staphylococcus* e quando é negativo indica-nos a presença de *Streptococcus* spp/*Enterococcus* spp.

Procedimento: com ajuda de uma ansa estéril, transferir a colónia em estudo para uma lâmina de vidro, colocar sobre a colónia uma gota de peróxido de hidrogénio e observar-se imediatamente se há formação ou não de pequenas bolhas de oxigénio, que é o resultado da quebra do peróxido de hidrogénio em água e oxigénio. Quando houver formação de pequenas bolhas de ar é o sinal de um resultado positivo. Ter muita atenção nas colónias com mais de 24h, porque estas colónias podem dar resultados falsos negativos, assim como também as colónias retiradas do meio contendo sangue, devido à existência da catalase dos eritrócitos.

Existem também outros métodos de identificação que diferem dos acima referidos, e são executados automaticamente. Estes métodos são realizados por equipamentos comercializados, e serão descritos abaixo.

Brucker Microflex LT® - Maldi-ToF Ms (Matrix Assisted Laser Desorption ionization time of flight mass spectrometry): é um equipamento automatizado que permite a identificação do microrganismo através de um espectro de biomoléculas. O equipamento permite uma identificação fiável em período de tempo muito curto em relação aos métodos convencionais.

Procedimentos: com ajuda de um palito de madeira, colocar uma colônia de cultura recente na placa e adicionar a matriz, que é constituída por um composto orgânico que absorve a energia na região do comprimento de onda do laser, deixar repousar por alguns minutos e levar ao equipamento para a leitura. A amostra é co cristalizada juntamente com a matriz adicionada, os pulsos do laser incidem sobre a amostra causando uma ágil excitação e nebulização da matriz cristalina que é acompanhada da ejeção simultânea da amostra para a fase gasosa, os iões na fase gasosa entram no analisador de massa e são detetados.

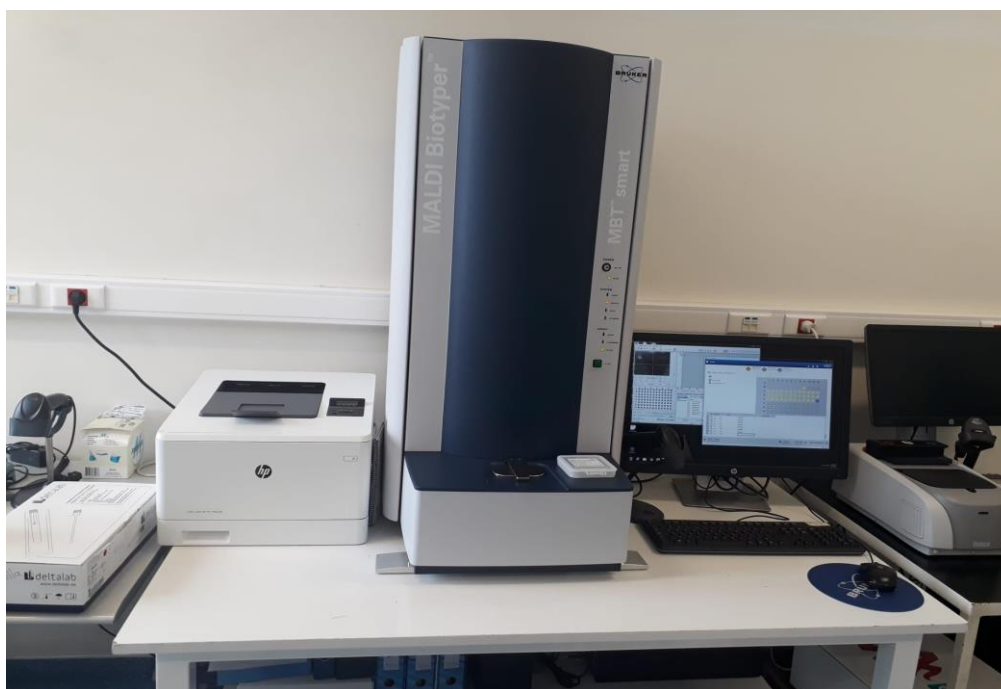


Figura 8- Equipamento de identificação microbiológica, Maldi-ToF. (Fonte: LMB CHN)



Figura 9- Placas do equipamento, Maldi-ToF. (Fonte:LMB CHN)

Vitek 2®(BioMérieux®): é um sistema fechado, que permite a identificação microbiana e o teste de sensibilidade aos antibióticos por colorimetria e turbidimetria em método de microdiluição. O sistema possui uma unidade de leitura de código de barras das cartas de identificação e das cartas de antibiogramas; o equipamento inclui uma câmara de enchimento de cartas por vácuo, uma zona de selagem das cartas e uma zona de incubação e leitura automática das cartas, um "software" com bases de dados que analisam e interpretam os dados enviados pelo sistema de leitura do equipamento. No "software" inclui um AES (Advanced Expert System), o qual atravessa a informação de identificação e a informação do antibiograma. A informação gerada, permite a avaliação dos valores dos-pontos-de-corte para os antibiogramas e a identificação de alguns fenótipos de acordo com os resultados obtidos. A avaliação final mostra se os resultados obtidos no antibiograma são consistentes com a bactéria identificada.

Cada carta de identificação, possui micro-poços, que contêm substratos bioquímicos desidratados e não é necessário a adição de reagentes. As cartas de antibiograma contêm micro-poços com substratos de antibióticos com concentrações diferentes. Assim a maioria dos microrganismos são identificados e a seguir são feitos os seus antibiogramas, permitindo assim a segurança dos resultados obtidos; uma vez que as cartas funcionam com códigos de barras e são seladas, asseguram um rastreio total e minimiza a probabilidade de contaminação e os riscos de erros de transcrição.

Vantagens do equipamento

- Aumenta a produtividade e a segurança com a automatização;
- Resultados obtidos no mesmo dia ou no dia seguinte;
- Maior precisão para uma maior confiança nos resultados;
- Faz o rastreio com cartões de código de barras;
- Sistema com o "software" intuitivo.



Figura 10- equipamento Vitek 2® (BioMérieux®). Fonte: LMB CHLN

Siemens MicroScan WakAway 96 SI®: é um equipamento que utiliza painéis que realizam a identificação e o teste de suscetibilidade em simultâneo. O estudo é feito com colónias de culturas realizadas anteriormente, a textura do inóculo varia de acordo ao painel utilizado e demora em torno de 6 a 8 horas para fazer a identificação e o antibiograma. A leitura é realizada pelo método de colorimetria e turbidimetria; os painéis são constituídos por 96 poços, que contêm substrato para efetuar a identificação do microrganismo através de provas bioquímicas, e diluições de antibióticos para realizar o teste de suscetibilidade dos antimicrobianos. Igualmente ao Vitek 2® o **MicroScan WakAway 96 SI®** faz determinação dos pontos-de-corte para os antibióticos testados e faz a interpretação segundo as normas da EUCAST.



Figura 11- Equipamento MicroScan WakAway 96 SI®. (Fonte: LMB CHLN)

Para a realização do antibiograma, além dos equipamentos automatizados acima descritos, são também utilizadas algumas técnicas manuais para o efeito. A técnica manual é um método complementar em caso de dúvida e em casos em que se necessitam testar alguns antibióticos que não se encontram presentes nas cartas automatizadas e também quando se tem poucos antibióticos a testar.

Os métodos que tive a oportunidade de acompanhar foram: métodos qualitativos, como o método de difusão em placas de Petri (Kirby Bauer), define o microrganismo isolado em sensível e resistente. E para determinar a CIM Os métodos quantitativos (E- teste).

Preparação do inóculo para o teste de diluição em placa

Colonias com morfologia similar são selecionadas a partir de uma cultura recente, com ajuda de uma ansa estéril a colônia é colocada em um tubo contendo 4 a 5 mL de soro fisiológico. A solução é misturada com o auxílio de um agitador vórtice durante 15 a 20 segundos antes de determinar a turbidez. Um medidor é usado para ajustar o inóculo ao padrão da turbidez de 0,5 na escala de McFarland ou visualiza-se a olho nú em espaço com luz suficiente, utilizando um cartão de fundo branco com linhas inversas pretas ao fundo. Para os microrganismos fastidiosos a suspensão é feita com tioglicolato em vez do soro fisiológico e é incubada na estufa a 35°C durante 30 minutos.

Método de difusão em disco:

Inundar a placa de petri contendo agar Mueller-Hinton (MH) com a suspensão, secar a temperatura ambiente durante 30 minutos - 1 hora. Os discos são colocados sobre a superfície do agar usando uma pinça. A quantidade de discos a colocar varia consoante o microrganismo e o produto. Um disco não deve ser recolocado após ter entrado em contacto com a superfície do agar, porque a difusão do antimicrobiano inicia imediatamente. As placas de agar contendo os discos de antimicrobianos são incubadas durante 24h em uma temperatura de 35°C; após a incubação a zona de inibição de crescimento ao redor de cada disco é medida e os resultados são comparados com as guias publicadas pela EUCAST.

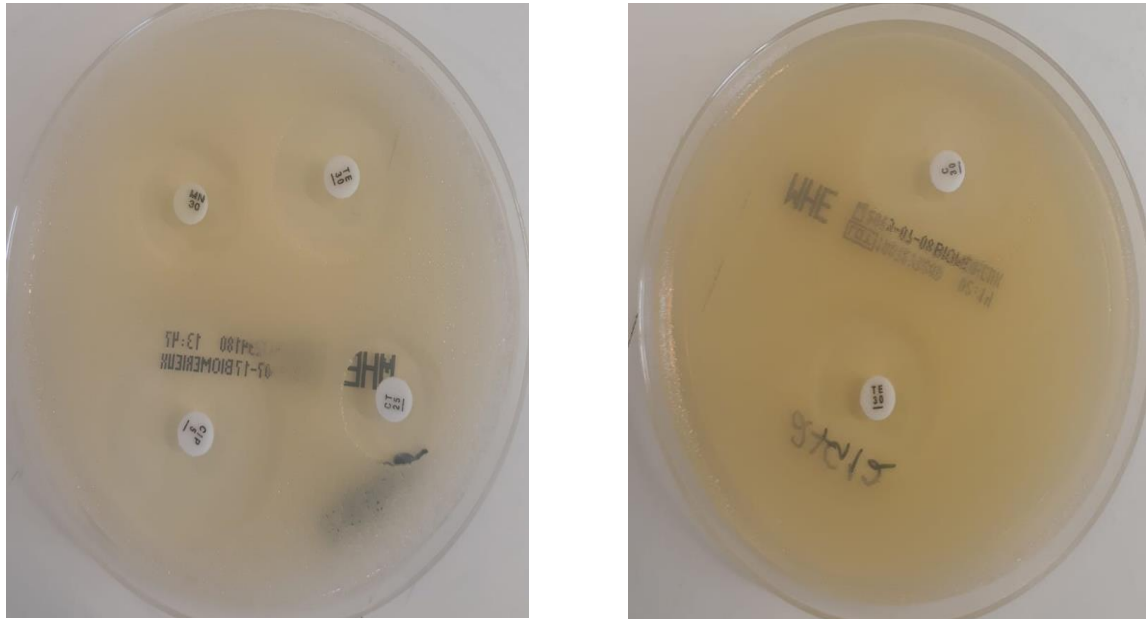


Figura 12- Placas contendo o agar Mueller-Hinton e os discos de antibióticos

Método de E-teste:

Pra o método de E teste ao invés da utilização dos discos impregnados com antibióticos, usam-se tiras impregnadas com um gradiente de antibiótico para determinar a CIM de um microrganismo. Após a incubação, uma elipse inibição simétrica é formada, a zona da borda que intercepta a tira corresponde ao valor da CIM.



Figura 13- Placa com tiras de E-teste

O TSA é realizado de acordo ao microrganismo em estudo e efetuam-se diferentes provas e avaliam-se diferentes antibióticos para se obter um teste de sensibilidade aos antimicrobianos corretos e adequados.

Na secção dos antibiogramas, também se executam algumas provas de resistências, como por exemplo quando surgem bactérias de *E. coli* ou *Klebsiella* com elevados padrões de resistência deve-se fazer o despiste das bactérias produtoras de ESBL e KPC.

3.3. Controlo de qualidade

É importante que toda entidade laboratorial, tenha como objetivo principal, a melhoria contínua dos processos envolvidos na sua rotina diária. Isto inclui a garantia do melhor serviço aos seus clientes. No entanto, para que isso aconteça, é indispensável o controlo de qualidade das atividades realizadas, a fim de identificar os possíveis erros que possam acontecer ou que já aconteceram e evitar, ou minimizar as consequências e recorrência destes erros.

No Laboratório de Microbiologia do Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte, existe uma preocupação com a qualidade dos exames realizados e dos resultados obtidos. Nele são efetuadas avaliações periódicas da exatidão dos resultados, estas avaliações baseiam-se no uso do controlo de qualidade interno e externo.

O controlo de qualidade interno envolve um conjunto de procedimentos que o Laboratório adota, para garantir um controlo e monitorização da qualidade dos resultados das análises à medida que as mesmas são executadas. Lembrando que no CQI as ações corretivas são pontuais.

No LM do CHULN, os controlos de qualidade interno de algumas técnicas são feitos logo ao início das atividades e sempre que se efetuar a abertura de um novo lote.

Na secção das urinas, nomeadamente no citômetro de fluxo o controlo de qualidade é feito diariamente, onde são processadas duas amostras de controlo e os seus resultados são observados em forma numérica e sob a forma de gráfico de Levey-Jennings. As amostras de controlo para o citômetro são fornecidas pela casa comercial do equipamento, com resultados-alvos conhecidos que são programados no equipamento. Estas amostras são processadas como uma qualquer amostra de urina e ajudam avaliar a precisão do método para ver se o equipamento está em perfeito funcionamento.

Para o controlo positivo da coloração de Gram são utilizadas as estirpes de *S. Aureus* ATCC 29213 e *E.coli* ATCC 25922, não são utilizados controlos negativos. O controle é feito semanalmente.

Para a prova da catalase é utilizado como controlo positivo a espécie de *Staphylococcus aureus* ATCC 29 213 e não utilizado um controlo negativo. Para a prova da oxidase também não é utilizado um controlo negativo e para o controlo positivo é utilizado a *pseudomona aeruginosa* ATCC 2785. O controle para ambos é feito sempre que é necessário um novo lote.

O TSA nos equipamentos automatizados WakAway e Vitek2 são utilizados com estirpes de referência a *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212 e o controlo é feito quinzenalmente.

Para o TSA manual as estirpes de referência são *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 29213, *E.faecalis* ATCC 29212, *P.aeruginosa* ATCC 27852 e o controlo é feito mensalmente.

O controlo de qualidade externo (CQI) envolve um conjunto de avaliações de avaliações do desempenho de sistemas analíticos, por meio de análise e padrões certificados e comparações inter-laboratoriais. Todos os laboratórios de microbiologia devem estar envolvidos em um programa de controlo de qualidade e as amostras envolvidas no CQI são analisadas por trabalhadores responsáveis por este trabalho. O controlo de qualidade externo utiliza amostras cegas que são tratadas e analisadas como amostras de doentes por cada um dos laboratórios participantes, estas amostras são enviadas periodicamente. Existem diversos programas de controle externo de qualidade.

O LM do CHULN participa no programa da UK NEQAS (United Kingdom National External Quality Assesment Scheme), uma organização britânica que distribui programas de avaliação externa de qualidade aos laboratórios que nele participam.

Para a bacteriologia utilizam-se os parâmetros General Bacteriology (NQ-SAPTGB), a frequência é de 12 ensaios por ano onde utilizam-se 3 amostras por cada ensaio realizado e o parâmetro Antimicrobial susceptibility (NQ-SAPTGB), a frequência de avaliação é de 12 ensaios por ano e 3 amostras por ensaio. Para a micologia o parâmetro utilizado é o (NQ-SAPTMY), onde são utilizados 3 ensaios

por anos e 4 amostras por ensaio. Para o antifungigrama é utilizado o parâmetro NQ-SAPTMYS, são utilizados 3 ensaios por ano e 2 amostra por cada ensaio. As amostras utilizadas, são preparadas e enviadas pela entidade organizadora. Os relatórios obtidos pelo laboratório, contemplam diversas informações que são analisadas e discutidas em reuniões de microbiologia e posteriormente reportadas para o organizador do programa.

3.4. Fase pós-analítica

Após a conclusão da fase analítica, os resultados obtidos são verificados, avaliados pelo médico patologista, procurando correlacionar o agente isolado com o contexto clínico-patológico do doente e colocado no sistema informático, para estar disponível para outros médicos do hospital.

4. Conclusão

Ao culminar percurso da formação académica, sinto-me bastante feliz e muito confiante porque escolhi o percurso certo. A realização deste estágio permitiu-me adquirir uma ampla perspetiva sobre a importância de se realizar um diagnóstico minucioso das ITUs. As implicações na falha do diagnóstico das ITUs, quer por falta de suspeita clínica, quer por erro de utilização dos testes de diagnóstico confere-se de alguma gravidade. Fazendo um balanço positivo do mesmo e com os aprendizados, serei capaz de contribuir na implementação em Angola das técnicas de diagnóstico aprendidas.

Referências bibliográficas

1. Lippert, H. (2005). Anatomia texto e atlas. Guanabara Kogman.
2. Najar,M; Saldanha, C; Banday, Y.(2009). Approach to urinary tract infections . Indian journal of nephrology. Vol.19: 129-139.
3. Guyton; Artur C; Hall; John E. (2006). Tratado de fisiologia médica. 11ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier.
4. Zatz; Roberto. (2002). Fisipatologia renal. 2ª ed. São paulo: Atheneu.
5. Tabian, J; Gorbein, J; Heidary, A; et al. (2008). Uropathogens and host characteristics. Journal of Clinical Microbiology. Vol.46(12): 3980-3986.
6. Vá尔特. (2003). Bioquímica clínica: princípios e interpretações. Vol.16
7. Guajardo-Lara, C; Gonzalez-Martinez,P; et al. (2009). Resistencia antimicrobiana en la infecciones urinárias po Escherichia coli adquirida en la cominidad. Salud Pública del Mexico. Vol. 51(2): 157-161.
8. Hooton, T. (2001). Pathogenesis of urinary tract infections: an update Journal of antimicrobial chemoterapy. Vol. 46:1-7.
9. Grabe, M. et all. (2008). Guidelines on the management of urinary and male genital tract infections. European Assiciation of urology.[Disponivel em : https://www.researchgate.net/publication/11604248_EAU_guidelines_for_the_management_of_urinary_and_male_genital_tract_infections_Urinary_Tract_Infection_UTI_Working_Group_of_the_Health_Care_Office_HCO_of_the_European_Association_of_Urology_EAU/download, acessado aos 03 de 07 de 2019].

10. Wugaft, A. (2010). Infecciones del trato urinário. Revista Medica Clinica Las Condes, Vol.21(4): 629-633.
11. Neto, D; et all (2003). Infecção urinaria comunitária: etiologia e sensibilidade bacteriana. Ata cirúrgica Brasileira Vol.18: 36-38.
12. Stam, W. (2001). An epidemic of urinary tract infections. New england jornal of medicine. Vol.345(14), 1055-156[disponível em: www.negm.or, acessado a 01 de julho 2019].
13. Schanffe, A; Jones, J; Dunn,J. (2001) . Association of vitro escherichia coli adherence to vaginal and bucal epithelial cells with suscepility of womwn to recurrent urinary tract infetions. New england jornal of medicine. Vol. 30;304(18):1062-1066
14. Gillenwater, J. (2002). Adult an pediatric urology 4th edition, Linppincott Wilians e Wilkins publishers.
15. Vieira, M.(2003). Infecção do trato urinário. Medicina Ribeirão Preto. Vol. 36(4): 365-369.
16. Chang,S; Shortliffe, L. (2006). Pediatric urinary tract infections. Pediatric Clinics of North America. Vol.53: 379-400.
17. Rolo, F; Moreira, P; Parada, B; (2006). Guia de prática clínica- cistite não complicada na mulher. Associação portuguesa de urologia [disponível em: <https://apurologia.pt/wp-content/uploads/2018/10/Guia-cistite.pdf>, Acessado á 01 de 07 de 2019]
18. Chung, A; Arianayagam, M; Rashid, P. (2010). Bacterial Cystitis in women. Australian, family physician. Vol.38 (5): 295-298.

- 19.Foster, R. (2008). Uncomplicated urinary tract infections. Women Obstetrecy Genecology. Medical Clinics of North America. Vol. 35: 234-248.
- 20.Farshad, S; Antavarinejad, M; et al. (2011). Molecular epidemiology of E. coli strains isolated from children with community arcquired urinary tract infection. African Journal Of Microbiology. Research. Vol.5(26): 4476-4483.
- 21.Biassoni, L; Chippingtons, S. (2008). Imaging in urinary tract infections: current strategies and new trends. Seminars in Nuclear Medicine. Vol. 38: 56-66.
- 22.Forbes; Betty A; Sahm; Daniel F; Wessfeld; et al. (2002). DiagnosticMicrobiology. 11th edition.
- 23.Geerlings, S. (20008). Urinary tract infections in patient with diabetes mellitus: epidemiology pathogenesis and treatment. International Journal of antimicrobial agente. Vol. 32(1): 54-55.
- 24.Luidge, E. (2008). Urinary tract infections in diabetes miellitus. Orvosi Hetilap. Vol.149(13): 597-600.
- 25.Rodrigues, F. J., Barroso, A. P. (2011). Etiologia e sensibilidade bacteriana em infeções do trato urinário. Revista Portuguesa de Saúde Pública. Vol. 29(2): 123– 131.
- 26.Rahn, D. (2008). Urinary tract infections: conteporary management. Urological Nursing. Vol. (28): 333-341.
- 27.Echeverria-Zarate, J; Sarmiento,E; Osoreos ,F.(2006). Infeccion del trato urinário y manejo antibiótico. Acta Medica Peruana. Vol. 23 (1).

28. Peleg, Y; Hooper, C. (2010). Hospital- acquired infections due to gram-negative bacteria. New England Journal of Medicine. Vol. 369(19): 1804-1813.
29. Fircanis, S; McKay, M. (2010). Recognition and management of extended spectrum beta-lactamase producing organisms (ESBL). Medicine and Health Rhode Island Vol. 93(5): 161-162.
30. Oteo, J; Perez-Vazquez, M; Campos, J. (2010). Extended- spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. Current Opinion in Infectious Diseases. Vol. 23(4): 320-326.
31. Foxman, B. (2002). Epidemiology of urinary tract: incidence, morbidity, and economic costs. The American Journal of Medicine. Vol. 113(1): 5-13.
32. Mendo, A., Antunes, J., Costa, M. C., Pereira, P. M., Monteiro, C., Gomes, C. F., et al. (2008). Frequência de infeções urinárias em ambulatório – dados de um laboratório de Lisboa. Parte I. Revista Lusófona de Ciências E Tecnologias Da Saúde. Vol. 5(2): 216–223.
33. Monteiro, P. (2018). Sintomas urinários no homem adulto. Urologia em medicina familiar. Associação Portuguesa de urologia. 4-10.
34. Ferreira, C; Heiberg, P. (2001). Infecção do trato urinário no pós-transplante renal em crianças. Jornal Brasileiro de Nefrologia. Vol. 23: 18-24.
35. Nicole, E. (2001). Urinary tract pathogens in complicated infection and in elderly individuals. The Journal of Infectious Disease. Vol. 183(1): 5-8.
36. Duarte, D; et al. (2002). Urinary infection in pregnancy: analysis of diagnostic methods and treatment. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia. Rio de Janeiro. Vol. 24. (7): 471-477.

37. Vallejos, C; Lopez, M; Enriquez, M; et al. (2010). Prevalencia de infecciones de vías urinarias en embarazadas atendidas en el Hospital universitario de Puebla. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. Vol. 30(4):118-122.
38. Shaikh, N; Hoberman, A. (2008). Epidemiology and risk factors for urinary tract infections in children. [disponible em: <https://www.uptodate.com/contents/urinary-tract-infections-in-children-epidemiology-and-risk-factors>; acessado á 25 de 10 de 2019].
39. Geavy, F; Schaelfer, F. (2008). *Comprehensive pediatric nephrology* mosby.
40. Domingo, A; Cacho, J; Jimenez, J; et al. (2010). Diagnóstico microbiológico de las infecciones del trato urinario. Recomendaciones de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. [disponível em : <https://seimc.org>. acessado em 26 de julho de 2019]
41. Koneman, E; Allen, S; Janda, W; et al. (2006). Diagnóstico microbiológico, ; texto e atlas. 6ª ed. Guanabara Koogan.
42. Camargo, I. L. B. da C., Maschieto, A., Salvino, C., Darini, A. L. C. (2001). diagnóstico bacteriológico das infecções do trato urinário - uma revisão técnica. *Medicina (Ribeirão Preto)*. Vol. 34(1): 70–78.
43. Krcmerk, S; Hromec, J; Demessova, D; (2001). Treatment of lower urinary tract infections in pregnancy. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 17: 279-82.
44. Bayer, I; Mergan, A; Theunissen, C; (2001). Management of urinary tract infections in the elderly. *Gerontology Geriatric*. Vol. 34: 153-7.
45. Laweranson, R; Abrutyn, E; Hebel, H. (2001). Antibiotic failure in the treatment of urinary tract infections in young women. *Journal of Antimicrobial*

Chemotherapy. Vol.48: 895-901.

46. Grupla, K; Scholes, D; Stam, E; (1999). Increasing prevalence of antimicrobial resistance among uropathogens causing acute and complicated cystitis in women. Journal of American Medical Association. Vol.281:736-8.[disponível em <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/188799>, acessado á 02 de 07 de 2019].

Sites consultados:

47. <https://www.biomerieux.pt/microbiologia-industrial/industria-alimentar/vitekr-2-compact>. acessado a 01 de julho 2019
48. <https://www.biomerieux.pt/microbiologia-industrial/industria-alimentar/previr-color>. acessado a 01 de julho 2019
49. <https://www.biomerieux.pt/produto/vitekr-2-id-cards>. acessado a 01 de julho 2019
50. <https://www.elitechgroup.com/product/aerospray-gram-series-2>. acessado a 01 de julho 2019
51. http://www2.iq.usp.br/docente/miyamoto/DEG_7_Espectrometria_de_massas.pdf. acessado a 01 de julho 2019
52. <https://www.sysmex-europe.com/products/uf-1000i-28.html> acessado aos 28 de julho de 2019